

HG-AAS에 의한 식품 중의 셀렌의 정량에 대한 연구

車基元 · 朴高漢 · 崔在成[†]

인하대학교 이과대학 화학과

[†]경원대학교 이과대학 화학과

(1994. 7. 29 접수)

Determination of Selenium in Foods by HG-AAS

Ki-Won Cha, Sang-Ho Park and Jae-Sung Choi

Department of Chemistry, Inha University, Inchon 401-751, Korea

[†]Department of Chemistry, Kyongwon University, Sungnam 461-701, Korea

(Received July 29, 1994)

요 약. 수소화물생성-원자흡수분광법(HG-AAS)을 이용하여 인삼, 마늘, 영지버섯에서 셀렌을 정량하는 방법에 대해 연구하였다. 수소화 셀렌을 생성시켜 셀렌을 분석하는데 미치는 무기산과 NaBH₄의 농도, 그리고 그들의 유속의 영향을 조사하였다. 닫힌계에서 여러가지 무기산을 이용한 시료분해 방법과 여러가지 양이온과 음이온들의 간섭영향을 연구하였다. 최적조건에서 셀렌의 검량선은 0~40 ppb 사이에서 얻어졌고 마늘, 영지버섯, 인삼에서 분석된 셀렌의 양은 각각 289, 296 및 198 ppb였다.

ABSTRACT. A method has been investigated for the determination of Selenium in Ginseng radix, Ganoderma Lucidum and Garlic using hydride generation atomic absorption spectrometry (HG-AAS). The effects of several acids and sodium tetrahydroborate concentration and their flow rate on the determination of Selenium for the hydride generation were investigated. The method of sample decomposition was also investigated using various mineral acids, such as nitric, perchloric and sulfuric acid in the closed system and foreign ion effects were studied. In the optimum conditions, we obtained calibration curve in the range 0~40 ppb. The analytical data of Garlic, Ganoderma Lucidum and Ginseng radix are 289, 296, 198 ppb, respectively.

서 론

셀렌은 사람이나 동물의 체내에서 어느 정도 미량까지는 필요한 원소로서 암에 대한 저항효과와 필수 미네랄로 작용하지만 그 정도를 넘어서면 독성을 나타내는 것으로 알려졌다^{1,2}. 식품중에 셀렌이 5 mg/kg 이상 존재하면 사람이나 동물에게 수은이나 비소와 같은 독성을 나타낸다³. 신체내 생리학적 중요성으로 인해 셀렌의 미량 정량에 대한 관심이 증가되고 있다. 지금까지 미량성분인 셀렌의 정량 방법으로는 원자방출분광법⁴, 원자흡수분광법⁵, 중성자 방사법⁶, 촉매 환원법⁷ 등이 알려졌으나 감도와 재현성 등에 문제가 있다.

Holak에 의해 셀렌과 비소 등을 원자흡수분광법

으로 분석할 때 수소화물 증기 발생법을 도입시킨 이래 많은 논문들이 발표되었다⁸⁻¹⁰. HG-AAS는 200 nm 근처의 분석파장을 갖는 Sb, As, Ge, Sn, Bi, Se, Te 등의 원소들을 수소화물로 만들어 가열된 석영 셀로 운반하여 원자화하는 원자흡수분광법으로 불꽃원자흡수분광법보다 훨씬 더 좋은 감도를 보여준다.

시료중에 셀렌을 정량할 때 H₂Se, Se₂Cl₂, SeCl₂ 같은 셀렌 화합물들은 휘발성이 있어 낮은 분석결과를 가져올 수 있고 Selenomethionine, Selenocystein과 Trimethylselenonium ion 같은 유기셀렌 화합물은 쉽게 분해되지 않는 것으로 알려졌다¹¹.

유기시료에 있는 셀렌의 정량을 위한 여러가지

시료 분해방법이 알려져 있다¹²⁻¹⁴. 셀렌은 휘발성이 있는 원소로 전식 회화 방법으로는 재현성 있는 결과를 얻기 힘들다. 질산-과염소산에 의한 분해방법과 질산-과염소산-황산에 의한 분해방법은 재현성 있는 결과를 얻기 힘들며 300 °C 이상의 고온으로 분해할 경우 셀렌화합물이 증발될 수 있다¹⁵.

본 연구에서는 인삼, 영지버섯 및 마늘에 있는 셀렌을 수소화셀렌으로 발생시켜 AAS로 정량할 때의 최적조건과 시료 분해방법으로 Soxhlet 장치를 이용하여 분해하여 정량하는 방법에 대해 연구하였다¹⁶.

실 험

시약 및 장치. 본 연구에서 사용한 원자 흡수 분광광도계는 Shimadzu AA-670을 사용하였고 Hydride Vapor Generator는 Shimadzu HVG-1을 사용하였다. 셀렌을 정량할 때는 Hollow cathode lamp와 Deuterium lamp에 의한 연속광원 보정법으로 바탕보정을 하여 정량하였다. 실험에서 사용한 연속-흐름 주입장치는 Fig. 1과 같다.

셀렌의 정량에 사용한 모든 시약은 분석용 시약을 사용하였고 물은 탈이온수를 사용하였다. 셀렌의 Stock solution은 순도 99.99%의 셀렌금속 1.000 g을 1:1 질산 10 ml로 녹여 휘산시키고 1000 ml로 묽혀

플리에티렌병에 보관하였다. 이 용액을 필요시 여러 단계로 묽혀 표준용액으로 사용하였다. 인삼시료는 강화인삼을 사용하였고 마늘은 제천마늘을 사용하였으며 영지버섯은 시중에서 구입하였다.

NaBH₄ 용액은 NaBH₄ 2.0 g(Junsei Chem. Co., Ltd.)을 NaOH 2.5 g과 같이 녹여 500 ml로 묽혀 사용하였고, 10 °C 이하로 유지하였으며 이 용액은 매일 새로 준비했다.

실험과정. 셀렌 수소화물을 생성하기 위해 시료는 30~50초 동안 HCl과 NaBH₄ 용액과 함께 반응하여야 한다. Fig. 1과 같은 수소화물 생성장치에 시료 및 표준물, 4M HCl과 0.4% NaBH₄ 용액을 각각의 병에 넣고 운반기체인 아르곤 가스의 유속을 70 ml/min로 맞춘 후, 시료의 주입속도는 6.4 ml/min, HCl 및 NaBH₄의 유속을 2.4 ml/min로 조절하고 발생한 수소화셀렌을 Atomization cell로 통과시켜 196.0 nm에서 셀렌의 흡광도를 측정하였다. 이때 Slit width는 0.3 nm이었다.

시료 분해 과정. 시료 분해 장치는 Fig. 2와 같다. 시료는 잘게 빻은 후 60 °C에서 건조, 보관하여 Fig. 2의 플라스크에 2~5 g의 시료를 정확히 달아 넣고 흡수관에는 0.1M NaOH 50 ml를 넣는다. 냉각기를 물로 냉각시키면서 진한 황산 15 ml를 시료가 든 플라스크에 가하고 150 °C에서 2시간 동안 가열한다. 가열을 멈추고 역류를 막기 위해 흡수관을 떼어내고

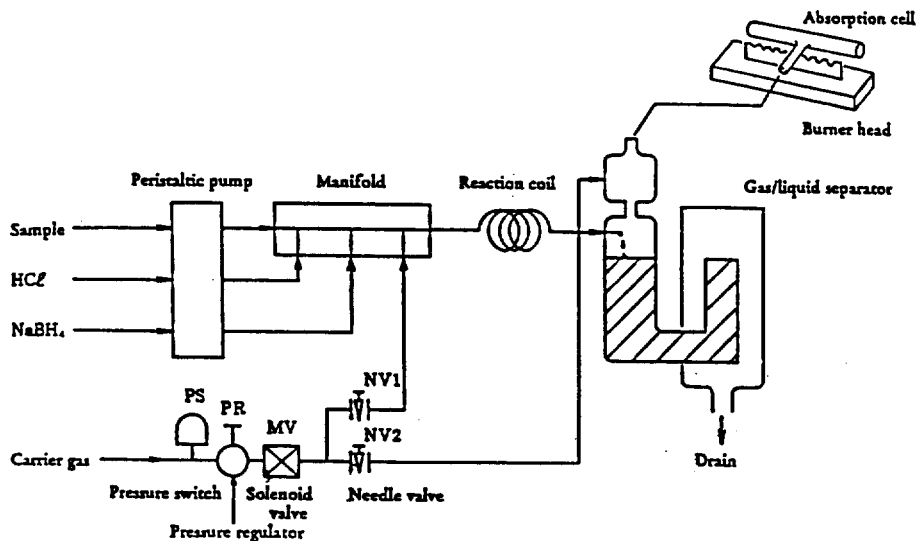


Fig. 1. Continuous flow injection system.

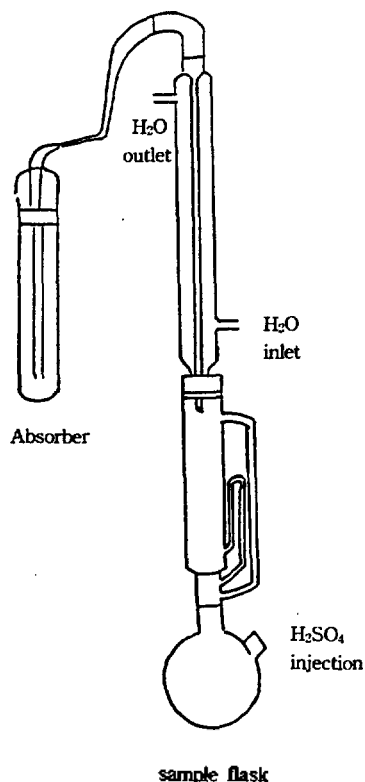


Fig. 2. Sample decomposition apparatus.

장치를 냉각시킨다. 흡수관을 다시 연결하고 질산과 과염소산을 3:1의 비로 혼합한 혼산 10 ml를 가하고 가열하여 탄소를 산화시키고 플라스크안의 산이 소량 남을 때까지 증발시킨다. 다시 1:1 염산 5 ml를 가하고 30분간 가열하여 산을 휘발시켜 셀렌을 낮은 산화 상태로 유지시킨다. 플라스크에 남은 용액을 물로 묽히고 거름종이로 거른 후 100 ml로 묽게 정량하였다. 기질의 방해요인을 제거하기 위해서 시료와 함께 일정량의 셀렌 표준용액을 spike 한 표준물 첨가법으로 정량하였다. 흡광도는 바탕용액을 이용하여 바탕보정하였다.

결과 및 고찰

원원재 및 산의 농도에 따른 영향. 수소화셀렌을 발생시켜 셀렌을 분석하기 위한 최적조건을 찾기 위해 HCl 및 NaBH₄ 농도를 일정히 하고 시료의 유속 변화에 따른 흡광도의 변화를 측정한 결과는 Fig. 3과 같다. Fig. 3의 결과를 보면 시료의 유속이

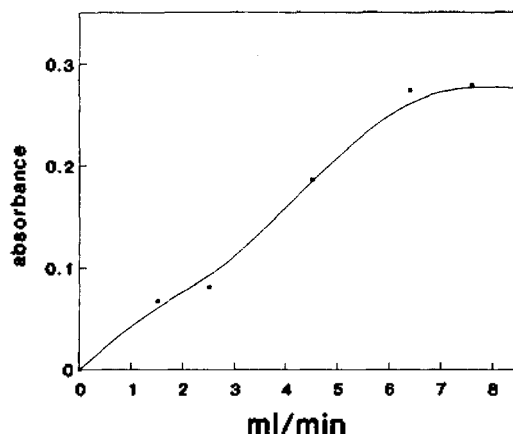


Fig. 3. Effects of sample flow rate on the absorbance (Se 20 ng/ml).

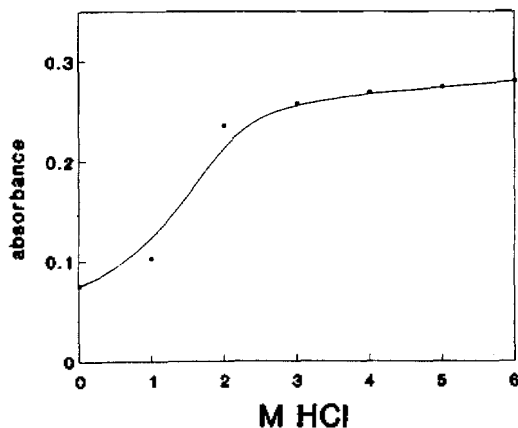


Fig. 4. Effects of HCl concentration on the absorbance (Se 20 ng/ml).

6 ml/min까지는 유속이 증가할 때 흡광도가 증가하다가 그 이상에서는 거의 일정하였다. 유속이 증가하면 셀렌원자가 많이 생겨 흡광도가 증가할 것이다. 그러나 그 이상 유속에서는 들어간 셀렌이온이 더 이상 원자화되지 않기 때문에 흡광도가 일정한 것 같다. 따라서 시료 유속은 6.4 ml/min로 고정하였다. 일정한 시료유속에서 HCl 및 NaBH₄의 농도변화에 따른 흡광도의 영향을 측정한 결과는 Fig. 4 및 5와 같다. 이들 결과에서, 수소화셀렌 생성의 최적조건은 HCl의 농도는 4M, NaBH₄의 농도는 0.4% 용액으로 나타났고 NaBH₄와 HCl의 유속은 2.4 ml/min이었다. 염산의 농도를 5M 이상으로 할 경우 셀렌의 흡광

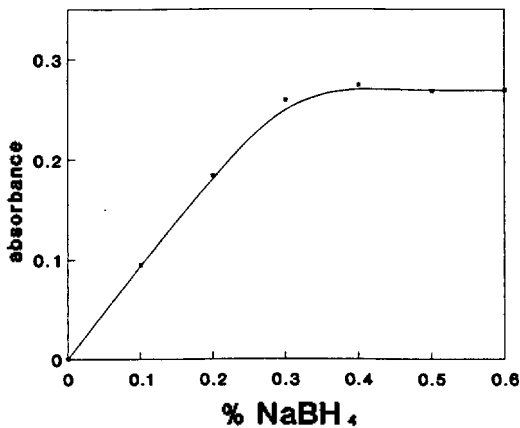


Fig. 5. Effects of NaBH₄ concentration on the absorbance (Se 20 ng/ml).

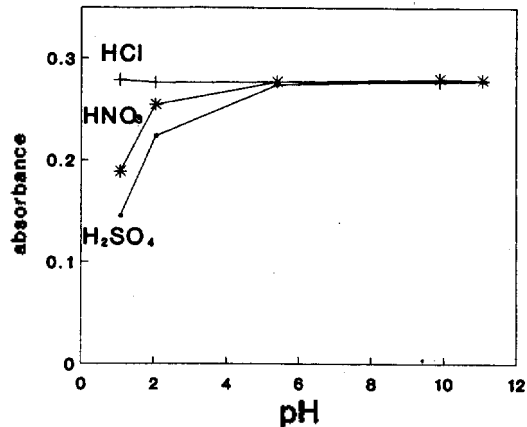


Fig. 6. Effects of sample pH change on the absorbance (Se 20 ng/ml).

도는 좀더 증가되나 잡음이 커지고 Atomization cell의 부식의 원인이 되므로 4 M로 하였다.

시료용액의 산도 영향. 시료용액의 산의 종류 및 pH 변화에 따른 영향을 조사하기 위해 황산, 질산 및 염산으로 pH를 변화시키면서 흡광도의 변화를 조사하였다. Fig. 6의 결과를 보면 시료의 pH가 낮을 때 황산과 질산에서는 흡광도가 줄어드는 경향을 보여준다. Narsito¹⁷ 등에 의하면 수소화물의 생성은 셀렌과 환원제 사이의 수소화물 생성반응과 산성에서 NaBH₄의 분해반응을 통한 H₂의 생성반응간의 경쟁을 통해 이루어진다고 알려졌다. 황산과 질산은 산화성이 강하여 낮은 pH에서 Se(VI)의 Se(IV)로의 환원을 저해하여 흡광도가 감소한 것 같다. 반면 염산은 산화성이 없으므로 셀렌의 환원이 잘 이루어져 일정한 흡광도를 갖는 것 같다. 결과적으로 수소화물생성에 의한 셀렌의 정량에서 HCl 산성의 시료용액이 적당함을 알았다. 그러나 산성이 크면 Hydride vapor generator의 teflon으로 되어 있는 reaction coil 및 석영으로 만든 Atomization cell의 수명에 지장을 준다. 따라서 시료용액의 pH는 4에서 5 사이로 하였다.

위에서 얻은 최적조건에서 셀렌의 농도변화에 따른 흡광도 변화를 측정하여 얻은 검정선은 Fig. 7과 같다. Fig. 7에서 보는 것과 같이 0~40 ppb 사이에서 Beer 법칙에 따라 있다. 40 ppb 이상에서는 Beer 법칙에서 벗어났으며 검출한계는 0.2 ppb이었다.

다른 이온의 간섭 영향. 셀렌을 HG-AAS로 분

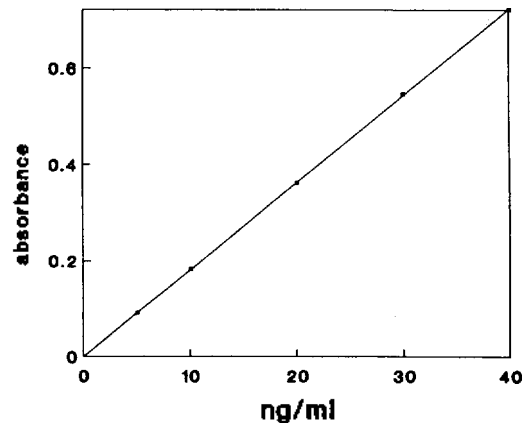


Fig. 7. Calibration curve of selenium by HG-AAS.

석할 때 간섭을 일으킬 가능성이 있는 원소로서는 셀렌과 흡수파장이 비슷하고 수소화물을 생성할 수 있는 원소이다. Table 1은 20 ppb Se⁴⁺에 0.1에서 1000 ppm 사이의 여러 종류의 방해이온을 넣고 HG-AAS로 196.0 nm에서 흡광도를 측정하여 간섭영향을 조사한 결과이다. 전이금속 중에 Co(II), Cd(II), Fe(II), Fe(III), Cu(II) 등의 전이금속들이 간섭을 일으키는 것으로 밝혀졌다. 이들의 방해작용은 이들이 이온이 환원제인 NaBH₄에 의해 미세 금속분말로 환원되고 이들이 시료의 수소화물을 분해시켜 방해한다는 설과^{18,19} 금속까지 환원되는 것이 아니고 금속 붕소화물(metal boride)이 생겨 이들이 시료의 수소화물을 분해시켜 방해한다는 설이 있다^{20,21}. 비소는 셀렌과 마찬가지로 수소화물을 생성시켜 수소화셀

Table 1. Interferences of foreign ions on the determination of selenium

Interfering Ion	Conc. (ppm)	Interference ^a (%)	Interfering Ion	Conc. (ppm)	Interference ^a (%)
Sb(III)	0.1	-57	Pb(IV)	0.1	0
(217.6) ^b	1	-100	(283.3)	1	-3
	10	-100		10	-4
As(III)	0.2	-9	Fe(III)	0.1	-25
(193.7)	1	-63	(248.3)	1	-48
	10	-100		10	-74
Cd(II)	1	0	Mg(II)	1	0
(228.8)	10	0	(285.2)	10	0
Ca(II)	1	0	Te(IV)	0.1	+22
(422.7)	10	0	(214.3)	1	+55
Co(II)	1	0		10	+67
(240.7)	10	0	Eu(III)	1	-4
Cu(II)	1	-58	(459.4)	10	-6
(324.8)	10	-100	Y(III)	1	0
Fe(II)	0.1	-3	(410.2)	10	0
(248.3)	1	-34	Sm(III)	1	0
	10	-42	(419.7)	10	0
S ²⁻	0.1	0	SO ₃ ²⁻	0.1	0
	1	-3		1	0
	10	-45		10	0
	100	-90		100	-5
SO ₄ ²⁻	1000	0	ClO ₄ ⁻	1000	0
S ₂ O ₃ ²⁻	1000	0	NO ₃ ⁻	1000	0
CO ₃ ²⁻	1000	0	PO ₄ ³⁻	1000	0

^aInterference effect: $\frac{\text{absorbance of 20 ng/ml of Se with Interfering ion}}{\text{absorbance of 20 ng/ml of Se without Interfering ion}} \times 100 - 100$

^bAnalytical lines of ions: nm.

렌의 생성을 방해하고 텔루르는 오히려 셀렌의 흡광도를 증가시키는 것으로 나타났다. 그러나 Ca(II), Mg(II), Na(I), K(I)같이 시료중에 상당량 존재하는 원소들은 간섭이 거의 없었다. Eu(III), Y(III), Sm(III) 등의 희토류 원소들도 간섭이 거의 없었다.

음이온으로는 200 nm 근처에서 흡광을 하는 이온에 대해 조사하였다. 큰 간섭을 일으키는 이온으로는 Sulfide ion과 Sulfite ion이 이었고 Sulfate ion과 Thiosulfate ion을 비롯한 나머지 음이온들은 간섭영향이 없었다.

셀렌의 휘발성실험. 셀렌 시료를 분해할 때 셀렌이 휘발되는지를 알기 위해 시료 분해 플라스크에 셀렌 표준용액 일정량을 넣고 시료 분해과정을 거친 후 분해 플라스크에 있는 셀렌과 휘발하여 흡수액에 흡수된 셀렌을 정량한 결과 전량이 분해플라스크에

Table 2. Vaporization test of selenium

Taken	Recovery	
	Sample flask	Absorber
1 mg	0.950 mg (95.2%)	0%
	0.992 mg (99.2%)	0%
Mean	0.971 mg (95.1%)	0%

존재하고 흡수액에서는 검출되지 않았다(Table 2). 따라서 시료에 있는 셀렌도 분해 플라스크에만 남아있는 것으로 생각하였다.

셀렌 정량시 황의 제거실험. S²⁻ 및 SO₃²⁻은 수산화물 생성에 의해 셀렌을 정량할 때 간섭함을 알았다. 이들의 간섭은 바탕보정에서 생긴다. 이들 이온은 200 nm 근방에서 락스펙트럼이 나타난다. 따라서 셀렌의 흡광도를 196.0 nm에서 측정할 때 바

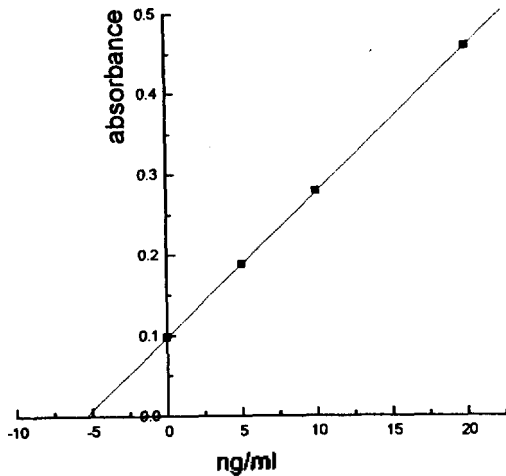


Fig. 8. Standard addition curve of Garlic sample.

당보정해야 한다. 이때 바탕 흡광도가 셀렌흡광도보다 상당히 크게 나타나 바탕보정값이 부정확하다. 일반적으로 셀렌을 함유하는 식품시료에는 황성분이 상당량 함께 존재한다. 따라서 황 성분이 S^{2-} 나 SO_3^{2-} 로 분해되면 셀렌의 정확한 정량이 어려우므로 분해과정에서 황성분을 제거하거나 SO_4^{2-} 형태로 바꾸어야 한다. 황성분이 제거되는가를 알아보기 위해 분해플라스크에 Na_2S 용액을 일정량 넣고 시료분해 과정을 거친 후 분해플라스크에 있는 용액을 HG-AAS로 196.0 nm 근처의 파장에서 흡광도를 측정할 결과 흡광도가 측정되지 않았다. 또한 Na_2SO_3 에 Na_2S 용액을 일정량 같이 넣고 같은 방법으로 분해과정을 거친 후 분해플라스크에 있는 용액을 196.0 nm 근처 파장에서 흡광도를 측정할 결과 흡광도가 나타나지 않았다. 이런 결과는 S^{2-} 나 SO_3^{2-} 이 분해과정에서 산화되어 SO_4^{2-} 으로 변했고 SO_4^{2-} 이온은 196.0 nm 근처에서 락스펙트럼이 생기지 않기 때문이다. 따라서 시료에 황성분이 있어도 셀렌 분석에는 방해하지 않음을 알았다.

인삼, 영지버섯 및 마늘에서 셀렌의 분석. 영지버섯, 인삼, 마늘시료의 셀렌을 분석할 때 기질효과를 줄이기 위해 시료용액에 셀렌표준용액을 일정량씩 달리 가하는 표준물 첨가법으로 분석하였다.

한 예로 시료 2.000 g에 셀렌 표준용액을 5, 10, 20 ppb 농도가 되도록 같이 넣고 시료 처리과정을 통해 분해한 후 분해플라스크에 남은 용액을 일정

Table 3. Analytical data of selenium in foods (ng/g Se)

Run No.	Garlic	Jinseng Radix	Ganoderma lucidum
1	272	173	401
2	318	219	258
3	325	212	245
4	240	189	277
Mean	289	198	296
R.S.D.	13.9%	10.7%	24.2%

부피로 묶힌 후 흡광도를 측정하여 도시한 결과는 Fig. 8과 같다. 이와 같은 방법으로 마늘, 인삼, 영지버섯 시료에서 셀렌을 분석한 결과는 Table 3과 같다. 인삼과 영지버섯에 존재하는 셀렌량은 Kim^2 등의 값과 비슷하였고 마늘은 인삼보다 약간 높은 결과를 얻었다. 영지버섯은 시료 분해가 마늘이나 인삼보다 어렵고 따라서 분해시 산이 더 필요하고 분해시간도 더 걸렸다. 영지버섯의 분석결과를 보면 상대표준편차가 24.2%로 마늘이나 인삼의 분석 결과보다 상대표준편차가 약 2배 크다. 그 이유는 위와 같이 완전 분해가 어려운데서 오는 것으로 생각된다.

결 론

(1) HG-AAS법에 의한 셀렌분석의 최적조건은 HCl의 농도와 유속은 4 M과 2.4 ml/min이고 $NaBH_4$ 의 농도와 유속은 0.4%와 2.4 ml/min이고, 시료의 유속은 6.4 ml/min이며 운반기체의 시료 유속은 70 ml/min이었다. 방해이온의 영향은 전이금속 이온이 방해물 하며 시료 중에 있는 황에 의한 방해는 없었다. 최적조건에서 셀렌의 검정선은 0~40 ppb 범위에서 얻어졌다.

(2) 셀렌을 Soxhlet 장치를 이용하여 분해하여 비교적 재현성 있게 셀렌을 정량하였다. 마늘, 인삼, 영지버섯 시료의 셀렌 분석 결과는 각각 289, 198, 296 ng/g이며, 상대표준편차는 각각 13.9%, 10.7%, 24.2%로 나타났다.

(3) 셀렌시료를 산으로 분해할 때 200 °C 이하에서 처리하면 셀렌은 휘발하지 않고 분해 플라스크에 전량이 존재함을 알았다.

인용문헌

1. Dimandis, E. P.; Hadjiioannou, T. P. *Anal. Chim. Acta* **1981**, *123*, 143.
2. Olalla, C. G.; Robles, L. C.; Alemany, M. T.; Aller, A. J. *Anal. Chim. Acta* **1991**, *247*, 19.
3. Kolbl, G.; Kalcher, K.; Irgolic, K. J. *Anal. Chim. Acta* **1993**, *284*, 301.
4. Bogojavlenskaja, A. N.; Molostova, N. I.; Perverzneva, E. F.; Poljakova, V. V. *Trudy tsvetmeta; Metallurgia*, Moscow, 1974.
5. Ivanova, E.; Varcheva, N.; Havezov, I.; Jordanov, N. *Fresenius Z. Anal. Chem.* **1986**, *327*, 477.
6. William, A. *Analyst* **1961**, *86*, 172.
7. Safavi, A.; Afkhami, A.; Massoumi, A. *Anal. Chim. Acta* **1990**, *232*, 351.
8. Holak, W. *Anal. Chem.* **1969**, *41*, 1712.
9. Cutter, G. A. *Anal. Chim. Acta* **1978**, *98*, 59.
10. Guo, X.; Brooks, R. R. *Anal. Chim. Acta* **1990**, *228*, 139.
11. Verlinden, M. *Talanta* **1982**, *29*, 875.
12. Kim, S. T.; Lee, C. W.; Choi, B. S.; Lee, B. C. *Journal of Korean Society of Analytical Science* **1990**, *3*, 391.
13. Cutter, G. A. *Anal. Chem.* **1985**, *57*, 2951.
14. Mayer, D.; Haubenwaller, S.; Kosmus, W.; Beyer, W. *Anal. Chim. Acta* **1992**, *268*, 315.
15. Hofsomer, H. J.; Bielig, H. J. *Diet. Lebensm., Rundsch* **1980**, *76*, 419.
16. Cha, K. W.; Ha, S. G. *Journal of Society of Analytical Sciences* **1992**, *5*, 235.
17. Narsito; Agterdenbos, J. *Anal. Chim. Acta* **1990**, *237*, 189.
18. Welz, B.; Melcher, M. *Analyst* **1984**, *109*, 569.
19. Welz, B.; Melcher, M. *Analyst* **1984**, *109*, 673.
20. Yamamoto, M.; Yamamoto, Y.; Yamashiga, T. *Analyst* **1984**, *109*, 1461.
21. Bye, R. *Talanta* **1986**, *33*, 705.